

Induksi Resistensi Tanaman Krisan Terhadap *Puccinia horiana* P. Henn. Dengan Menggunakan Ekstrak Tanaman Elisitor (Resistance Induction of Chrysanthemum Plant to *Puccinia horiana* P. Henn Using Elicitor Plant Extracts)

Hanudin, Wakiah Nuryani, dan Budi Marwoto

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jln. Raya Pacet – Ciherang, PO Box 8, Sindanglaya, Cianjur, Jawa Barat, Indonesia 43253
E-mail: hanudin_handjar09@yahoo.com

Diterima: 27 Mei 2015; direvisi: 16 Mei 2016; disetujui: 23 Juni 2016

ABSTRAK. Penyakit karat putih yang disebabkan oleh *Puccinia horiana* Henn. merupakan salah satu penyebab masalah yang paling penting pada tanaman krisan (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.). Serangan pada tanaman ini dapat menurunkan nilai komersial bunga krisan. Induksi resistensi merupakan salah satu strategi untuk mengendalikan penyakit ini. Beberapa jenis tanaman elisitor terbukti efektif meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan berbagai jenis patogen. Tujuan penelitian adalah memperoleh minimal dua spesies ekstrak tanaman elisitor yang efektif menginduksi ketahanan tanaman krisan terhadap *P. horiana*, dan mendapatkan informasi kandungan asam salisilat pada tanaman krisan yang terbukti tahan terhadap *P. horiana* akibat perlakuan ekstrak tanaman elisitor. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Hias pada Januari hingga Desember 2013. Tujuh tanaman elisitor yang diuji, yaitu daun tanaman ivy (*Hedera helix*), batang tanaman willow (*Salix* sp.), daun bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*), daun *Phytholacca americana* (anti viral), daun kecubung (*Datura suaveolens*), daun pagoda (*Clerodendron japonicum*), dan daun lengkuas (*Alpinia galanga*) yang masing-masing diencerkan dengan perbandingan 1 : 1 w/v (100 g bagian bahan tananam digerus menggunakan mortal sampai halus, kemudian ditambah 100 ml larutan 0,01 M fosfat buffer pH 7,0). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak batang *Salix* sp. dan daun *C. japonicum* efektif menginduksi ketahanan tanaman krisan terhadap *P. horiana* dengan persentase penekanan masing-masing mencapai 80,20 dan 75,46%. Kandungan asam salisilat pada tanaman krisan tahan *P. horiana* yang diinduksi oleh tanaman elisitor, masing-masing bervariasi antara 1.767,55–3.767,55 ppm. Pemanfaatan hasil penelitian ini dapat meningkatkan daya saing bunga krisan di pasar internasional melalui aplikasi ekstrak tanaman elisitor sehingga ramah lingkungan dan ekonomis.

Kata kunci: *Dendranthema grandiflora*; Efektivitas; Tanaman elisitor; Induksi resistensi; *Puccinia horiana*

ABSTRACT. White rust disease caused by *Puccinia horiana* Henn. Is one of the most important problems in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.) cultivation system. Attacks on these plants can reduce the commercial value of the Chrysanthemum flowers. Induction of resistance is one of reliable strategies for controlling the disease. Some types of plants elicitor are proved to be effective to improve plant resistance to various pathogens. The purpose of this study is to obtain at least two species of plant extracts that its effective to induce plant resistance to *P. horiana* of chrysanthemum, and obtain information on the content of salicylic acid of resistant plant has been induced by application of plant elicitor extract. The research was conducted in the Laboratory and Greenhouse Indonesian Ornamental Crops Research Institute conducted between January until December 2013. Seven elicitor plants that are leaf ivy (*Hedera helix*), the plant stem willow (*Salix* sp.). Leaves flowers at four o'clock (*Mirabilis jalapa*), leaves *Phytholacca americana* (anti-viral), cone-shaped leaves (*Datura suaveolens*), leaf pagoda (*Clerodendron japonicum*), and leaves galangal (*Alpinia galanga*), were tested. Each of which is diluted in the ratio 1 : 1 w / v (100 g of the material plants crushed using a mortal until smooth, then add 100 ml of 0.01 M phosphate buffer pH 7.0). The results showed that stem extract of *Salix* sp. and the leaves extract of *C. japonicum* were effectively induced plant resistance to *P. horiana* of chrysanthemum with emphasis percentages respectively reached 80.20 and 75.46%. Salicylic acid content in chrysanthemum effectively induced by elicitor plants, each contained varying between 1,767.55 to 3,767.55 ppm. The used of leave extract of both species can improve resistance plant species.

Keywords: *Dendranthema grandiflora*; Effectiveness; Elicitor plants; Resistance; *Puccinia horiana*

Penyakit karat putih yang disebabkan oleh *Puccinia horiana* Henn. merupakan salah satu kendala yang paling penting pada sistem budidaya tanaman krisan (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev.), sebab infeksiya mengakibatkan kerusakan tanaman dan penurunan kualitas bunga. Infeksi karat putih pada daun-daun yang terdapat di sekitar bunga menurunkan nilai estetika dan nilai komersial bunga hingga 100% (Zeng et al. 2013). Petani di Indonesia, pada umumnya melakukan upaya pengendalian penyakit karat putih pada tanaman krisan dengan menggunakan fungisida

kimia sintetis. Penggunaan pestisida sintetis dapat menimbulkan resistensi pada patogen target, serta meninggalkan residu yang dapat membahayakan kesehatan bagi para produsen krisan. Aplikasi bahan kimia sintetis yang berlebih dapat menimbulkan kerusakan lingkungan. Oleh karena itu perlu dicarikan alternatif pengendalian lain yang ramah lingkungan, misalnya dengan mengaktifkan gen ketahanan tanaman krisan terhadap patogen tersebut.

Telah banyak penelitian diarahkan pada upaya pengaktifan gen ketahanan tanaman terhadap infeksi

mikrob lain atau senyawa kimia. Ketahanan seperti ini disebut ketahanan yang diinduksi (*induced resistance*). Induksi resistensi atau imunisasi atau resistensi buatan ialah suatu proses stimulasi resistensi tanaman inang tanpa introduksi gen-gen baru. Induksi resistensi menyebabkan kondisi fisiologis yang mengatur sistem ketahanan menjadi aktif dan atau menstimulasi mekanisme resistensi alami pada tanaman inang (Rahmawati *et al.* 2014). Dua bentuk ketahanan terinduksi yang umum diteliti, yaitu *systemic acquired resistance* (SAR) dan *induced systemic resistance* (ISR). Ketahanan tanaman terinduksi dapat dipicu dengan penambahan bahan-bahan kimia tertentu (misalnya tanaman elisitor), mikrob nonpatogen, patogen avirulen, ras patogen inkompatibel, dan patogen virulen yang infeksiya gagal karena kondisi lingkungan tidak mendukung (Vallad & Goodman 2004).

Tanaman elisitor ialah suatu tanaman yang mengandung senyawa biologis yang dapat menyebabkan peningkatan produksi fitoaleksin bila diaplikasikan pada tumbuhan atau kultur sel tumbuhan (Mialoundama *et al.* 2009). Senyawa tersebut dapat mengaktifkan gen ketahanan tanaman terhadap patogen. Ketahanan tanaman yang terinduksi oleh penambahan senyawa kimia atau senyawa elisitor diistilahkan dengan induksi SAR. Induksi SAR dicirikan dengan terbentuknya akumulasi asam salisilat (*salicylic acid/SA*) dan protein PR (*pathogenesis-related proteins/PR*), sedangkan ketahanan terinduksi karena agen biotik nonpatogenik sering dikenal dengan ISR, seperti oleh rizobakteria (Rahmawati *et al.* 2014).

Menurut Walters *et al.* (2013), bahwa induksi resistensi dapat dilakukan melalui aplikasi agens hayati (seperti rizobakteria nonpatogen) dan senyawa kimia (sintetik dan nabati). Keberhasilan senyawa penginduksi dalam mengendalikan serangan patogen tanaman berkisar antara 20–89%, bergantung pada jenis tanaman, kondisi fisiologis, dan faktor abiotik seperti kelembaban dan suhu. Hasil penelitian Duriat (2008) dan Somowiyarjo *et al.* (2001) menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak tanaman elisitor berupa daun bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*) dan daun bunga pagoda (*Clerodendrum japonicum*) paling efektif menginduksi ketahanan tanaman cabai terhadap virus Gemini. Selanjutnya Hartati (2012) melaporkan bahwa ekstrak tanaman sambiloto mengandung elisitor pemicu ketahanan tanaman terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum* E. F. Smith) dengan tingkat keefektifan sebanding dengan perlakuan senyawa kimia asam salisilat+Ca.

Mekanisme induksi resistensi berkaitan dengan peningkatan produksi beberapa jenis protein *pathogenesis related-proteins* (PRP), antara lain

kitinase, b-1,3 glutanase, proksidase, endoproteinase, dan oxalate oksidase (van Loon & Bakker 2003). Mayoritas protein tersebut bekerja melalui sintesis senyawa penyandi ketahanan seperti asam salisilat, asam jasmonat, dan etilen, serta aktivitas anti mikrob melalui hidrolisis dinding sel, toksik, dan signal ketahanan. Senyawa elisitor tersebut terekspresi pada kondisi tanaman senesen, terluka, stress dingin, tetapi ada yang juga terekspresi pada setiap saat dalam jaringan bunga, pollen, buah dan bagian vegetatif yang mekanisme kerjanya menyerupai kerja imunitas pada manusia (Gusnawaty *et al.* 2014).

Tujuan penelitian adalah memperoleh minimal dua ekstrak spesies tanaman elisitor yang efektif sebagai induser ketahanan tanaman krisan terhadap *P. horiana* dan memperoleh informasi kandungan asam salisilat pada tanaman krisan yang terinduksi efektif oleh ekstrak tanaman tersebut. Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah salah satu ekstrak tanaman elisitor (*C. japonicum*) diduga dapat berfungsi sebagai induser yang mengaktifkan gen ketahanan tanaman krisan terhadap *P. horiana* dan tanaman elisitor diduga mampu meningkatkan kandungan asam salisilat dalam tanaman krisan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Percobaan dilakukan pada Januari sampai dengan Desember 2013, sebagian besar kegiatan dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi). Analisis kandungan asam salisilat dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Cimanggu, Bogor. Bahan penelitian yang digunakan, yaitu benih krisan, tanaman elisitor, asam salisilat, dan lain-lain. Ruang lingkup percobaan meliputi penyiapan ekstrak tanaman elisitor, uji kemangkusan tanaman elisitor pada percobaan skala laboratorium, uji kemangkusan tanaman elisitor pada percobaan skala rumah kaca, dan pengamatan.

Penyiapan Ekstrak Tanaman Elisitor

Tujuh jenis tanaman elisitor yang berpotensi sebagai penginduksi ketahanan tanaman yang digunakan pada percobaan ini, yaitu daun tanaman ivy (*Hedera helix*), batang ranting wilow (*Salix* sp.), tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*), daun *Phytolacca americana* (anti viral), daun kecubung (*Datura suaveolens*), daun pagoda (*Clerodendron* sp.), dan daun lengkuas (*Alpinia galanga*) (Gambar 1a – 1f). Semua daun tanaman tersebut kemudian digerus menggunakan



Gambar 1. (a) Tanaman ivy (*Hedera helix*), (b) tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*), (c) tanaman willow (*Salix* sp.), (d) tanaman *Phytolacca americana*, (e) tanaman kecubung (*Datura suaveolens/Brumansia suaveolens*), (f) tanaman pagoda (*Clerodendron japonicum*), enam dari tujuh spesies tanaman elisitor sebagai bahan induser yang digunakan pada percobaan skala laboratorium dan rumah kaca (*Six of the seven species of plant elicitor as an inducer of materials used in laboratory-scale experiments and greenhouses*)



Gambar 2. Uji pendahuluan untuk menentukan kemangkusan beberapa induser dilakukan dalam toples plastik (*A preliminary test to determine effectiveness of some inducers performed in plastic jars*)

mortal sampai halus dan diencerkan 1:1 (w/v), yaitu 100 g bagian bahan tananam, ditambah 100 ml 0,01 M fosfat buffer pH 7,0 (Duriat 2008).

Ekstrak tanaman disaring menggunakan kain kasa steril. Hasil saringan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bertutup plastik sekrup berulir berukuran panjang 16 cm berdiameter 1 cm, kemudian dimasukkan ke dalam lemari es pada suhu 10°C.

Uji Kemangkusan Tanaman Elisitor Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan *P. horiana* pada Percobaan Skala Laboratorium

Uji efikasi tanaman elisitor terhadap ketahanan *P. horiana* pada tanaman krisan secara *in vitro* telah dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Balithi, dilaksanakan sebagai berikut: material tanaman yang digunakan sebagai objek penelitian adalah daun

tanaman krisan yang terinfeksi *P. horiana* stadia awal sebagai sumber inokulum patogen. Pada stadia tersebut, serangan *P. horiana* pada daun tanaman krisan tampak bintik bercak kuning atau putih yang tidak berpustul. Material daun tersebut diambil dari pertanaman krisan yang ditanam di Rumah Plastik Kebun Percobaan Balithi di Segunung, kemudian dibawa ke laboratorium untuk diseleksi jumlah bintik putih/kuningnya sebagai sumber inokulum *P. horiana*. Materi terpilih ditentukan berdasarkan jumlah bintik putih/kuning yang berkisar antara 1 dan 5 buah bintik. Selanjutnya sebanyak tiga helai daun krisan yang dipilih dimasukkan ke dalam toples plastik no. seri CT. 350 (di atas styrofoam berlubang) yang berisi air (Gambar 2). Seterusnya daun krisan tersebut diberi perlakuan ekstrak tanaman elisitor. Pada Penelitian ini tidak dilakukan pemberian cahaya tambahan pada material tanaman, karena yang digunakan ialah helaian daun krisan.

Aplikasi ekstrak tanaman elisitor dilakukan dengan merendam pangkal daun krisan yang terinfeksi *P. horiana* stadia awal (bergejala bintik putih yang permukaannya rata berjumlah tiga sampai lima spot/helai daun), di dalam suspensi ekstrak tanaman elisitor selama 10 menit. Kemudian pada pangkal daun krisan tersebut dibalut dengan kapas yang sebelumnya dicelupkan ke dalam ekstrak tanaman sesuai perlakuan, yang diikuti dengan penyemprotan ekstrak tanaman tersebut interval 3 hari. Aplikasi ekstrak tanaman elisitor selama percobaan dilakukan sebanyak tiga kali,

yaitu pada saat 3 dan 6 hari setelah aplikasi pertama (HSAP).

Uji Kemangkusan Tanaman Elisitor Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan *P. horiana* pada Percobaan Skala Rumah Kaca

Pada percobaan di rumah kaca, materi tanaman yang digunakan sebagai objek penelitian adalah benih tanaman krisan yang sudah berakar, yaitu varietas Swarna Kencana yang berumur 15 hari setelah setek, inokulum *P. horiana*, dan ekstrak tanaman elisitor. Benih tanaman krisan tersebut dilaporkan rentan terhadap *P. horiana* (Silvia *et al.* 2012) yang diperoleh dari Unit Pengelola Benih Sumber (UPBS) Balai Penelitian Tanaman Hias.

Tanah di dalam kantong plastik berukuran 10 kg (25 cm x 30 cm) diberi pupuk kandang matang dengan perbandingan 1 : 1 (v/v) ditempatkan di dalam rumah kaca dengan jarak antarperlakuan 20 cm. Benih krisan ditanam dengan kerapatan populasi 5 pohon/kantong plastik atau 25 pohon/ulangan/perlakuan. Pupuk buatan yang diberikan masing-masing 1 kg Urea, SP-36, dan ZK dicampurkan kemudian dilarutkan dalam 100 liter air. Campuran larutan pupuk tersebut diaplikasikan pada tanaman krisan dalam kantong plastik sebanyak 50 ml/pohon.

Aplikasi ekstrak tanaman elisitor dilakukan dengan merendam bagian akar tanaman krisan selama 10 menit pada saat tanam, yang diikuti dengan penyemprotan melalui daun interval 7 hari sekali hingga tanaman

Tabel 1. Jumlah perlakuan dalam percobaan uji kemangkusan tanaman elisitor pada skala percobaan di laboratorium dan rumah kaca (*Number of treatment in the trial of effectiveness elicitor plant on a scale experiments in the laboratory and greenhouse*)

Kode perlakuan (<i>Treatments code</i>)	Jenis tanaman elisitor (<i>Elicitors plant type</i>)			Konsentrasi aplikasi (<i>Application concentration</i>)	Acuan (<i>References</i>)
	Nama lokal (<i>Local names</i>)	Nama ilmiah (<i>Scientific names</i>)	Bagian tanaman yang digunakan (<i>Part of plants used</i>)		
1.	Bunga ivy	<i>Hedera helix</i>	Daun & Batang	1%	Sulyo 2012 *
2.	Bunga pukul empat	<i>Mirabilis jalapa</i>	Daun & Batang	1%	Duriat 2008
3.	Wilow	<i>Salix sp.</i>	Batang	1%	Sulyo 2012*
4.	Pitolaka	<i>Phytholacca americana</i>	Daun & Batang	1%	Sulyo 2012*
5.	Datura	<i>Datura sp.</i>	Daun	1%	Biswas <i>et al.</i> 2010
6.	Pagoda	<i>Clerodendron japonicum</i>	Daun	1%	Duriat 2008
7.	Lengkuas	<i>Alpinia galanga</i>	Daun	1%	Sulyo 2012*
8.	Asam salisilat	-	-	2.1 mM	Hassan <i>et al.</i> 2006
9.	Kontrol	-	-	-	-

Sulyo (2012)* Komunikasi pribadi

berumur 84 hari setelah tanam (HST). Inokulasi *P. horiana* dilakukan secara buatan dan selama pertumbuhan tanaman, inokulasi dilakukan hanya satu kali. Sumber inokulum *P. horiana* diambil dari daun tanaman krisan yang terinfeksi *P. horiana* dari rumah plastik Balithi Segunung, kemudian diinokulasikan pada tanaman krisan berumur 15 HST dengan cara disemprotkan (Hanudin et al. 2011).

Tanaman dipelihara pada kondisi hari panjang selama 35 HST dengan penambahan cahaya buatan dilakukan dengan sinar lampu pada malam hari selama 4 jam pada pukul 22.00 hingga 02.00. Pencahayaan dilakukan dengan menggunakan lampu TL 40 watt dengan jarak antarlampu 2 m dan ketinggian 1,5 m dari tajuk tanaman (Sanjaya 1994). Aplikasi insektisida untuk mencegah serangan hama dilakukan satu kali seminggu dengan menggunakan abamectin 18,4 g/l (PT Syngenta, Indonesia).

Rancangan Percobaan Skala Laboratorium dan Rumah Kaca

Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan sembilan perlakuan jenis ekstrak tanaman dengan tiga ulangan. Jenis perlakuan diuraikan dalam Tabel 1.

Parameter Pengamatan

Data yang dikumpulkan pada percobaan di laboratorium adalah pertumbuhan dan perkembangan pustul karat putih pada toples plastik. Parameter

Tabel 2. Skala dan kriteria kerusakan (Scale and damage criteria)

Skala (Scale)	Kriteria (Criteria)
0	Tanaman tidak terinfeksi <i>P.horiana</i>
1	Kerusakan sangat ringan. Penyakit karat terbatas pada daun-daun bawah dengan kerusakan tidak lebih dari 5% luas permukaan daun
2	Kerusakan ringan. Penyakit karat terbatas pada daun-daun bawah dengan kerusakan antara >5–10% luas permukaan daun
3	Kerusakan sedang. Penyakit karat dijumpai pada daun-daun bawah dan tengah dengan kerusakan antara >10 – 20% luas permukaan daun
4	Kerusakan berat. Penyakit karat dijumpai pada daun-daun bawah, tengah, dan atas dengan kerusakan antara >20 – 40% luas permukaan daun
5	Kerusakan sangat berat. Penyakit karat dijumpai pada daun-daun bawah, tengah, dan atas dengan kerusakan antara >40 – 80% luas permukaan daun

pengamatan pertumbuhan meliputi penambahan jumlah pustul pada 3 dan 7 HSAP, serta perkembangan kondisi pustul, yaitu perubahan pustul dari bintik putih (BP) menjadi bintik putih/cokelat dalam kondisi pustul cembung tidak pecah (BPC), dan pustul berwarna cokelat dalam keadaan pecah (PKP) yang diamati berdasarkan metode Suhardi et al. (2011).

Pada percobaan di rumah kaca, dilakukan pengamatan terhadap peubah sebagai berikut:

1. Insiden penyakit yang mencakup waktu inkubasi, intensitas penyakit ditentukan berdasarkan pendekatan metode Suhardi (2009), diamati pada 10% tanaman sampel yang telah ditentukan secara sistematis. Pengamatan dilakukan pada umur 3, 5, 7, 9, dan 11 minggu setelah tanam. Tiap sampel diamati intensitas penyakit berdasarkan skala 0–5, dengan kriteria yang tertera di Tabel 2.

Intensitas penyakit karat dihitung dengan rumus:

$$I = \frac{\sum (v \times n)}{(Z \times N)} \times 100\%$$

di mana:

I = Intensitas karat daun (%)

v = Skala kerusakan tiap kategori serangan

n = Jumlah tanaman tiap kategori serangan

Z = Skala tertinggi dari kategori seranga

N = Jumlah tanaman sampel yang diamati

Selain pengamatan tersebut, juga dihitung persentase penekanan dibanding kontrol. Persentase penekanan dibanding kontrol dihitung berdasarkan rumus :

$$PP = (T - K)/K \times 100\%$$

di mana:

PP = Persentase penekanan

K = Kontrol

T = Perlakuan yang bersangkutan

2. Analisis asam salisilat. Aktivitas asam salisilat (SA), merupakan variabel pendukung yang berpengaruh langsung pada ketahanan tanaman krisan terhadap *P. horiana* (Timmusk 2003). Analisis ini dilakukan di Laboratorium BB Pascapanen Pertanian Cimanggu Bogor. Analisis *high performance liquid chromatography* (HPLC) untuk mengukur SA (pada perlakuan 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, dan 15) mengadopsi Petrek et al. (2007). Kuantifikasi hasil analisis SA menggunakan rumus Taufiq et al. (2010), yaitu luas area contoh / luas area standar x 100 ppm. Analisis SA dilakukan

pada akhir pengamatan tinggi tanaman. Cara pengambilan sampel untuk uji SA ditentukan secara komposit sesuai perlakuan (total 16 sampel).

- Analisis keunggulan. Analisis keunggulan perlakuan diperlukan untuk mengetahui keunggulan dari masing-masing perlakuan pada setiap tahapan percobaan secara komprehensif. Hal tersebut dapat dilakukan dengan membandingkan hasil semua tahapan percobaan, dan menyimpulkannya berdasarkan frekuensi keunggulan. Kriteria keunggulan suatu perlakuan ditentukan berdasarkan frekuensi keunggulan yang semakin tinggi, dan sebaliknya. Perlakuan yang unggul ditandai dengan nilai satu, dan yang tidak unggul diberi nilai nol.

Pada percobaan ini, yang menjadi tolok ukur keunggulan, yaitu:

Hasil percobaan di laboratorium:

- Jumlah pustul menurun nyata
- Selisih jumlah pustul antara pengamatan ke-7 dan ke-3 relatif kecil
- Kondisi pustul pada stadia tertentu tidak viabel dan
- Persentase penekanan tanaman elisitor dibanding perlakuan kontrol cukup tinggi

Hasil percobaan di rumah kaca:

- Waktu inkubasi relatif lama
- Intensitas serangan *P. horiana* pada 84 HST relatif rendah

- Persentase penekanan dibanding kontrol cukup tinggi
 - Kandungan asam salisilat pada daun cukup tinggi
- Analisis Data

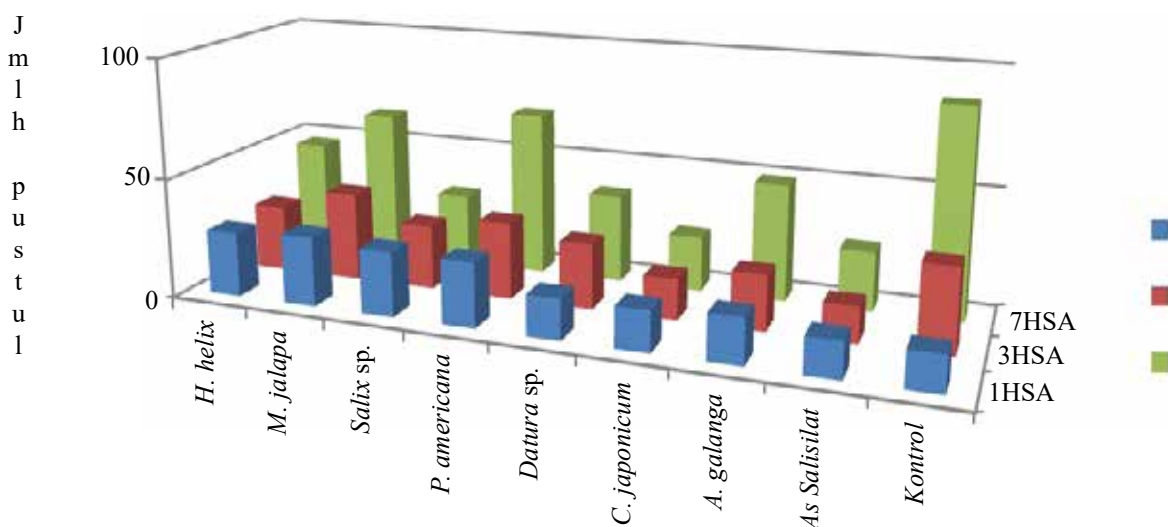
Semua data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan ANOVA menggunakan SPSS 15. Untuk mengetahui perbedaan di antara perlakuan maka dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kemangkusan Tanaman Elisitor Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan *P. horiana* pada Skala Percobaan Laboratorium

Pengaruh ekstrak tanaman elisitor terhadap pertumbuhan dan perkembangan *P. horiana* secara *in vitro* menunjukkan hasil yang bervariasi bergantung pada jenis ekstrak tanaman yang diaplikasikan. Jumlah pustul pada beberapa perlakuan berkisar antara 15 dan 87 unit setiap daun.

Pada pengamatan umur 3 hari setelah aplikasi (HSA) pengaruh aplikasi ekstrak tanaman elisitor, terhadap pertumbuhan *P. horiana* mulai tampak jelas. Hal tersebut ditunjukkan oleh rendahnya tingkat penambahan jumlah pustul, yaitu nol atau tetap tidak ada penambahan pustul (populasi awal sama dengan



Gambar 3. Pertumbuhan *P. horiana* pada beberapa perlakuan ekstrak tanaman elisitor saat pengamatan 1, 3, dan 7 hari setelah aplikasi (HSA) di laboratorium [*P. horiana* pustules growth in some plant extracts elicitor treatment time of observation 1, 3, and 7 days after application (DAA) in the laboratory]

populasi saat pengamatan 3 HSA). Perlakuan yang menunjukkan tingkat pertumbuhan pustul yang paling rendah tersebut masing-masing adalah ekstrak batang *Salix* sp., daun *C. japonicum*, dan asam salisilat. Jumlah pustul pada awal dan saat pengamatan 3 HSA pada perlakuan tersebut masing-masing 27, 17, dan 15 unit/daun (Gambar 3).

Pada pengamatan umur 7 HSA perlakuan *Salix* sp., *C. japonicum*, dan asam salisilat masih tampak konsisten dapat menekan pertumbuhan *P. horiana* yang ditunjukkan oleh kecilnya selisih jumlah pustul pada pengamatan ketiga dan ketujuh. Selisih jumlah pustul pada perlakuan dan pengamatan tersebut masing-masing 3 dan 10 unit, sedangkan selisih jumlah pustul pada perlakuan lainnya berkisar antara 19 dan 52 unit/helai daun. Ekstrak tanaman elisitor berpengaruh pula terhadap perkembangan pustul *P. horiana*. Hal tersebut dapat dilihat dari perubahan stadia pustul yang belum pecah menjadi pustul pecah yang jumlahnya bervariasi, bergantung pada keefektifan dari ekstrak tanaman tersebut. Pada perlakuan ekstrak tanaman *C. japonicum* dan batang *Salix* sp., jumlah pustul dalam kondisi pecah lebih sedikit (masing-masing enam dan

tujuh spot) daripada perlakuan lainnya yang berkisar antara 19 dan 80 spot. Berdasarkan hasil perhitungan statistik jumlah pustul pada perlakuan *C. japonicum* dan *Salix* sp., tidak berbeda nyata dengan jumlah pustul pada perlakuan pembanding (asam salisilat), tetapi jumlah pustul pada ketiga perlakuan tersebut berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (Tabel 3).

Berdasarkan Gambar 3 dan Tabel 3 tampak bahwa perlakuan ekstrak tanaman *C. japonicum*, batang *Salix* sp., dan daun *Datura* sp. merupakan tiga ekstrak tanaman elisitor yang berpotensi sebagai inducer yang diduga dapat mengaktifkan gen ketahanan tanaman krisan terhadap *P. horiana*. Hasil uji di laboratorium, ketiga ekstrak tanaman tersebut masing-masing secara *in vitro* dapat menekan pertumbuhan pustul *P. horiana* sebesar 73,56; 65,52; dan 57,47%. Hal ini berarti bahwa keefektifan ketiga ekstrak tanaman tersebut sebanding.

Uji Kemangkusan Tanaman Elisitor Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan *P. horiana* pada Percobaan Skala Rumah Kaca

Pada umumnya gejala penyakit akan timbul apabila terjadi interaksi antara tiga faktor, yaitu patogen yang

Tabel 3. Uji kemangkusan tanaman elisitor dan penekanannya terhadap perkembangan *P. horiana* pada percobaan skala laboratorium (*Effectiveness test of elicitor plant and its emphasis on the development of *P. horiana* in laboratory-scale experiments*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Jumlah dan kondisi pustul <i>P. horiana</i> pada 7 hari setelah aplikasi ekstrak tanaman elisitor (<i>The number and condition of pustules <i>P. horiana</i> in 7 days after application of plant extracts elicitor</i>)					Persentase penekanan tanaman elisitor dibanding kontrol [<i>Suppressing of elicitor plants compared with control</i>], %
	Jumlah pustul (<i>The number of pustules</i>)	Selisih jumlah pustul antara pengamatan ke-7 dan ke-3 [<i>The difference between the number of pustules in 7th and 3rd (spot) observations</i>]	Jumlah pustul pada setiap kondisi stadia [<i>Number of pustules on every stadia conditions (spot)</i>]			
			Bp	Bpp	Pkp	
Daun <i>H. helix</i>	47	19	*7,00 b	10, 00 b	30,00 b	45,98
Daun <i>M. jalapa</i>	63	26	3,00 b	10,00 b	50,00 ab	19,54
Batang <i>Salix</i> sp.	30	3	0,00 b	20,00 a	7,00 c	65,52
Daun <i>P. americana</i>	69	37	35,00 a	15,00 a	19,00 c	20,69
Daun <i>Datura</i> sp.	37	10	10,00 b	7,00 b	20,00 c	57,47
Daun <i>C. japonicum</i>	23	6	12,00 b	5,00 b	6,00 c	73,56
Daun <i>A. galanga</i>	49	26	12,00 b	17,00 a	20,00 c	43,68
Asam salisilat	25	10	2,00 b	11,00 ab	12,00 c	71,26
Kontrol	87	52	0,00 b	7,00 b	80,00 a	TDH
KK (<i>CV</i>), %			7,20	7,35	8,73	

Keterangan : *Angka rerata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%. TDH : Tidak dilakukan penghitungan penekanan, karena kontrol merupakan pembanding perlakuan

Bp : Stadia awal gejala serangan *P. horiana* berupa bintik putih pada daun krisan

Bpp: Stadia lanjut tahap 1 berupa bintik putih berpustul (bintik putih berpermukaan cembung)

Pkp: Stadia lanjut tahap 2 berupa pustul putih/coklat pada kondisi pecah.

Tabel 4. Hasil percobaan kemangkusan beberapa induser terhadap intensitas serangan *P. horiana* di rumah kaca (Results of effectiveness of some inducer to the intensity of the attacks of *P. horiana* in greenhouse)

Perlakuan (Treatments)	Waktu inkubasi (Incubation times) Hari (Days)	Rerata intensitas serangan <i>P. horiana</i> pada hari ke ... setelah tanam (The average intensity of <i>P. horiana</i> on day ... after planting), %				Penekanan dibanding kontrol (Suppressing compared to control), %	Kandungan asam salisilat pada daun krisan (<i>Salicylic acid</i> content on the leaves of <i>chrysanthemum</i>)	
		7	28	56	84		ppm	Kriteria**
Daun <i>H. helix</i>	8,33 b	2,22 b	7,75 b*	8,89 b	11,11 b	70,59	3166,69	Tinggi
Daun <i>M. jalapa</i>	7,33 b	10,20 a	11,11 a	13,34 b	15,56 b	58,81	1971,48	Rendah
Batang <i>Salix</i> sp.	8,67 b	2,22 b	4,45 b	4,45 b	7,48 b	80,20	3729,59	Tinggi
Daun <i>P. americana</i>	9,26 b	11,11 a	26,67 a	28,89 a	29,67 a	21,47	1853,93	Rendah
Daun <i>Datura</i> sp.	8,00 b	6,66 b	8,16 b	22,22 a	24,33 a	35,60	3548,24	Tinggi
Daun <i>C. japonicum</i>	7,67 b	4,45 b	4,45 b	4,45 b	9,27 b	75,46	3227,13	Tinggi
Daun <i>A. galanga</i>	8,33 b	6,66 b	10,68 ab	26,66 a	33,33 a	11,79	2448,70	Sedang
Asam Salisilat	13,67 a	4,44 b	6,67 b	6,67 b	10,58 b	71,99	3111,51	Tinggi
Kontrol	7,67 b	9,85 a	17,78 a	37,78 a	37,78 a	Tdh	1767,55	Rendah
KK (%)	19,17	11,37	12,15	13,57	11,67	-	-	

Angka rerata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5% Kriteria kandungan asam salisilat (ppm) pada daun krisan ditentukan sebagai berdasarkan kriteria Sujatmiko *et al.* (2012) adalah sebagai berikut : 3.100 – 3.990 = tinggi, 2.100 – 2.990 = sedang, 1.100 - 1.990 = rendah

virulen, inang yang rentan, dan lingkungan yang kondusif untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Hal ini dikenal dengan sebutan segitiga penyakit (Suresh *et al.* 2012). Perkembangan gejala serangan *P. horiana* pada daun krisan sebagai berikut. Mula-mula muncul bercak berwarna kuning pada permukaan atas daun yang kemudian diikuti dan perubahan warna pusat bercak dari putih menjadi cokelat tua.

Pada permukaan bawah daun terbentuk pustul yang pada awalnya berwarna merah muda, selanjutnya pustul membesar, berwarna putih, dan akhirnya tanaman mati. Pustul karat sebenarnya merupakan kumpulan teliospora yang akan berkecambah membentuk basidiospora yang kemudian menginfeksi tanaman (Suhardi 2009).

Pada Tabel 4 tampak bahwa serangan *P. horiana* pada tanaman krisan bervariasi, bergantung pada kemangkusan setiap perlakuan. Intensitas serangan tersebut berkisar antara 2,22 dan 37,78%, dengan waktu inkubasi berkisar antara 7,33 dan 13,67 HST. Perlakuan asam salisilat menunjukkan waktu inkubasi yang paling lama, yaitu rerata 13,67 hari. Waktu inkubasi terlama kedua dan ketiga ditunjukkan oleh perlakuan *P. americana* dan *Salix* sp., rerata masing-masing yaitu 9,26 dan 8,67 hari. Waktu Inkubasi (WI) adalah waktu yang diperlukan oleh suatu patogen untuk menginfeksi, dimulai sejak penetrasi pada tanaman inang sampai timbulnya gejala penyakit (Aliah *et*

al. 2015). Di samping itu WI dapat menunjukkan tingkat keefektifan suatu pengobatan (Khaerati & Ihwan 2011) yaitu apabila WI lama (tinggi) maka obat tersebut cenderung efektif mengendalikan patogen dan sebaliknya.

Pada saat tanaman berumur 7 sampai dengan 84 HST perlakuan batang *Salix* sp. dan ekstrak daun *C. japonicum* secara nyata lebih efektif sebagai induser ketahanan tanaman krisan terhadap *P. horiana* dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal tersebut ditunjukkan oleh rendahnya intensitas serangan pada perlakuan tersebut. Intensitas serangan penyakit karat putih pada pengamatan 84 HST terhadap perlakuan tersebut masing-masing adalah 7,48 dan 9,27%, dengan persentase penekanan dibanding kontrol berturut-turut adalah 80,20 dan 75,46% (Tabel 4).

Rendahnya intensitas serangan pada kedua perlakuan tersebut diduga dipengaruhi oleh terjadinya mekanisme ketahanan terimbas. Hoerussalam *et al.* (2013) melaporkan bahwa ketahanan terimbas adalah ketahanan suatu tanaman terhadap cekaman biotik dan abiotik setelah tanaman tersebut diberi perlakuan agens penginduksi yang berupa mikroba patogen atau non patogen, metabolit mikroba, ekstrak tumbuhan atau senyawa sintetik seperti asam salisilat.

Kandungan asam salisilat secara umum berkaitan langsung dengan ketahanan tanaman terhadap penyakit. Hasil pengukuran asam salisilat pada daun krisan

Tabel 5. Frekuensi keunggulan beberapa tanaman elisitor pada percobaan *in vivo* dan *in vitro* pada tanaman krisan (*Frequency advantage of elicitor plant in vivo and in vitro on chrysanthemum experiments*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Frekuensi keunggulan hasil percobaan di laboratorium terhadap parameter pengamatan (<i>Frequency excellence in laboratory experiments results against parameter observation</i>)				Frekuensi keunggulan hasil percobaan di rumah kaca terhadap parameter pengamatan (<i>Frequency excellence in green house experiments results against parameter observation</i>)				Total frekuensi (<i>Frequency total</i>)
	Jumlah pustul (<i>Pustul number</i>)	Selisih jumlah pustul antara pengamatan ke-7 dan ke-3 (spot)	Kondisi pustul pada stadia tertentu	Penekanan tanaman elisitor dibanding perlakuan kontrol (%)	Waktu inkubasi (<i>Incubation times</i>)	IS <i>P. horiana</i> pada 84 HST	Penekanan tanaman elisitor dibanding perlakuan kontrol	Kriteria (<i>Criteria</i>)	
Daun <i>H. helix</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	2
Daun <i>M. jalapa</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Batang <i>Salix</i> sp.	1	1	1	1	0	1	1	0	6
Daun <i>P. americana</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Daun <i>Datura</i> sp.	0	1	0	0	0	0	0	1	2
Daun <i>C. japonicum</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	7
Daun <i>A. galanga</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Asam Salisilat	1	1	1	1	0	1	1	1	7
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	1	1

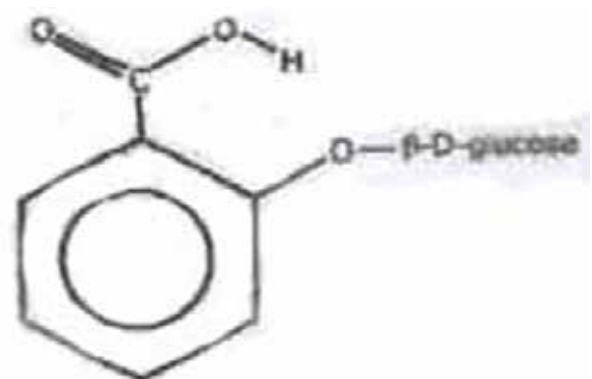
IS = Intensitas Serangan

0 = Perlakuan tidak unggul pada parameter pengamatan yang ditentukan

1 = Perlakuan unggul pada parameter pengamatan yang ditentukan

yang diberi perlakuan ekstrak batang *Salix* sp. dan *C. japonicum* dengan intensitas serangan *P. horiana* yang rendah pada 84 HST, yaitu masing-masing 7,48% dan 9,27%, kandungannya 3.729,59 dan 3.227,46 ppm (Tabel 4). Sejalan dengan hal tersebut Sujatmiko *et al.* (2012) melaporkan bahwa tanaman melon yang mengandung asam salisilat tinggi, diketahui memiliki ketahanan terhadap penyakit layu fusarium yang semakin tinggi pula. Namun, keefektifan asam salisilat sintetis tidak konsisten apabila diaplikasikan pada tanaman krisan. Hasil pengukuran asam salisilat sintetis pada daun krisan yang diberi perlakuan kontrol dengan intensitas serangan *P. horiana* menunjukkan paling tinggi pada 84 HST, yaitu 37,78%, sedangkan kandungan asam salisilatnya yang paling tinggi, yaitu 3767,55 ppm.

Asam salisilat sintetis (elisitor kimia sintetis) dan ekstrak tanaman (elisitor alami berasal dari ekstrak tanaman) diduga memiliki keefektifan yang berbeda untuk menginduksi gen ketahanan tanaman terhadap patogen. Kemampuan penghambatan perkembangan penyakit oleh perlakuan ekstrak tanaman diduga lebih baik dibanding asam salisilat sintetis. Hal ini diduga disebabkan oleh mekanisme penghambatan kedua bahan tersebut yang berbeda. Pengaruh asam salisilat sintetis diduga menginduksi ekspresi ketahanan bersifat lokal, sedangkan ekstrak tanaman bersifat sistemik yang diserap ke seluruh bagian tanaman (Goel & Paul 2015).



Salicin
(2-O-(-D- glucopyranoside)-benzylalcohol)

Gambar 4. Struktur kimia salicin yang berasal dari tanaman *Salix babylonica* (*Salicin chemical structure derived from Salix Babylon*) (Sumber/Source: Mahdi 2010)

Analisis Keunggulan

Berdasarkan data Tabel 5, diperoleh hasil analisis keunggulan secara komprehensif sebagai berikut: tiga besar perlakuan elisitor yang diduga dapat berfungsi sebagai inducer ketahanan tanaman krisan terhadap serangan *P. horiana*, yaitu asam salisilat, ekstrak tanaman *C. japonicum*, dan ekstrak batang *Salix* sp.

Ekstrak tanaman *C. japonicum* menunjukkan paling tinggi jumlah frekuensi keunggulannya, yaitu tujuh kali. Ekstrak daun tersebut menunjukkan keunggulan terhadap hampir semua parameter pengamatan, kecuali pada parameter pengamatan waktu inkubasi (pada percobaan di rumah kaca) tidak unggul. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh perlakuan perbandingan (asam salisilat), kedua perlakuan tersebut menunjukkan frekuensi keunggulan tujuh kali.

Hasil penelitian Musa (2010) menunjukkan bahwa daun bunga pagoda mengandung senyawa aktif terpen dan steroid. Senyawa tersebut terdapat pula pada bawang putih (*Alium sativum*) yang dapat mengendalikan cendawan patogen yaitu layu fusarium pada tanaman tomat (Chohan & Perveen 2015).

Selanjutnya Duriat (2008) dan Hersanti (2004) melaporkan bahwa ekstrak daun *C. japonicum* dapat menginduksi ketahanan tanaman cabai terhadap virus Gemini sebesar 50%. Selain sebagai penginduksi gen ketahanan tanaman, ekstrak daun pagoda juga dapat berfungsi sebagai anti hipertensi yang sangat berguna bagi kesehatan manusia (Mardiana *et al.* 2014). Ekstrak batang tersebut unggul terhadap parameter pengamatan jumlah pustul, selisih jumlah pustul, stadia pustul, dan persentase penekanan dibanding kontrol. Pada percobaan di rumah kaca perlakuan tersebut unggul terhadap semua parameter pengamatan, kecuali tidak unggul terhadap parameter pengamatan waktu inkubasi dan kriteria kandungan asam salisilat. Waktu inkubasi dan kandungan asam salisilat pada perlakuan tersebut masing-masing ialah 8,67 hari dan 2.729,59 ppm, kandungan asam salisilat pada perlakuan tersebut masuk kategori sedang (Tabel 5).

Perlakuan ekstrak batang *Salix* sp., merupakan perlakuan unggulan kedua dengan frekuensi keunggulan sebanyak enam kali. Ekstrak tanaman *Salix* sp., telah digunakan di beberapa negara dan terbukti efektif sebagai inducer ketahanan yang dapat mengendalikan beberapa patogen tanaman (Gurjar *et al.* 2012), di antaranya adalah untuk mengendalikan penyakit bercak ungu yang disebabkan oleh *Alternaria porii* pada bawang merah (Sobhy *et al.* 2013), dan penyakit virus kuning (*bean yellow mosaic virus*) pada kacang alba (Sofy *et al.* 2014). Hasil penelitian Zheng *et al.* (2005) dan Kammerer *et al.* (2005) melaporkan bahwa beberapa spesies *Salix* (seperti : *Salix alba*, *S. daphnoides*, *S. purpurea*, *S. matsudana*), umumnya mengandung senyawa glikosida, seperti salicin, dan diidentifikasi juga beberapa senyawa terpen, flavonoid, dan beberapa jenis steroid yang berperan menghambat perkembangan patogen. Rumus kimia salicin yang berasal dari tanaman willow (*Salix babylonica*) ialah sebagai berikut : (2-0-(-D- glucopyranoside) –

benzylalcohol), dan rumus bangunnya disajikan pada Gambar 4.

KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak batang *Salix* sp. dan daun *C. japonicum* efektif sebagai inducer ketahanan tanaman krisan terhadap serangan *P. horiana*. Kandungan asam salisilat pada tanaman krisan yang diinduksi oleh tanaman elisitor bervariasi, berkisar antara 1767,55–3767,55 ppm.

Penggunaan ekstrak tanaman elisitor dapat direkomendasikan penggunaannya pada sistem budidaya tanaman yang menerapkan *Green Agriculture*, karena sistem budidaya tanaman tersebut menggunakan sarana produksi yang ramah lingkungan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, melalui Puslitbang Hortikultura, dan Balai Penelitian Tanaman Hias yang telah membiayai, memberikan saran, kritik dalam perencanaan dan pelaksanaan penelitian. Penulis mengucapkan terima kasih juga kepada Mahasiswi PKL dari Fakultas Pertanian Universitas Lampung Sdr. Intan Zahara Arie, Astri Ambun Suri, dan Candra Susiyanti, serta Sdr. Muhidin, Ade Sulaeman, Ridwan Daelani, Asep Samsudin, dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian dan pelaporan ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aliah, NU, Sulistyowati L & Muhibbudin, A 2015, ' Hubungan lapisan epidermis daun pisang terhadap serangan jamur (*Mycosphaerella musicola*) penyebab bercak daun sigatoka pada sepuluh kultivar pisang', *Jurnal Hama dan Penyakit Tanaman*, vol. 3, no. 1, hlm. 35-43.
2. Biswas, C, Srivastava, SSL & Biswas, SK 2010, 'Effect of biotic, a biotic, and botanical inducers on crop growth and severity of brown spot in rice', Abstract, *Indian Phytopathology.*, vol. 63, no. 2, pp. 21.
3. Chohan, S & Perveen, R 2015, 'Phytochemical analysis and antifungal efficacy of rhizome extracts of various plants against fusarium wilt and root rot of tomato', *Int. J. Agric. Biol.*, vol. 17, no. 6, pp. 1193-99.
4. Duriat, AS 2008, 'Pengaruh ekstrak bahan nabati dalam menginduksi ketahanan tanaman cabai terhadap vektor dan penyakit kuning keriting', *J. Hort.*, vol. 18, no. 4, hlm. 446-56.

5. Gurjar, SM, Ali, S, Akhtar, M & Singh, KS 2012, 'Efficacy of plant extracts in plant diseases management', *Agr. Sci.*, vol. 3, pp. 425-33.
6. Gusnawaty, HS, Taufiq, M, Sarawa, M, Hasan, A & Asdar 2014, 'Kajian potensi agens hayati untuk mengendalikan penyakit kutil (*Synchytrium pogostemonis*) pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.)', *Agriplus Majalah Ilmiah*, vol. 24, no. 01, pp. 1-13.
7. Goel, N & Paul, PK 2015, 'Polyphenol oxidase and lysozyme mediate induction of systemic resistance in tomato, when a bioelicitor is used', *Journal of Plant Protection Research*, vol. 55, no. 4, pp. 343-50.
8. Hanudin, W, Nuryani, E, Silvia, Djatnika, I & Soedarjo, M 2011, 'Perbandingan teknik inokulasi *Puccinia horiana* dan seleksi bakteri antagonis untuk mengendalikan penyakit karat putih pada krisan', *J. Hort.*, vol. 21, no. 3, hlm. 173-84.
9. Hartati, SY 2012, 'Tanaman akar kucing, sambiloto, dan temulawak sebagai elisitor penginduksi ketahanan tanaman jahe terhadap penyakit layu bakteri', *Bul. Litro*, vol. 23, no. 2, hlm. 161-8.
10. Hassan MEM, El-Rahman, SA, El-Abbas, IH & Mikhail, MS 2006, 'Inducing resistance against faba bean (*Vicia faba* L.) chocolate spot disease', *Egypt J. Phytopathol.*, vol. 34, no. 1, pp. 69-79.
11. Hersanti 2004, 'Pengaruh ekstrak beberapa tumbuhan dalam menginduksi ketahanan sistemik tanaman cabai merah (*Capsicum annum* L.) terhadap *Cucumber Mosaic Virus* (CMV)', Disertasi Sekolah Pascasarjana Universitas Padjadjaran, 115 hlm.
12. Hoerussalam, Purwantoro, A & Khaeruni, A 2013, 'Induksi ketahanan tanaman jagung (*Zea mays* L.) terhadap penyakit bulai melalui *seed treatments* serta pewarisannya pada generasi S1', *Jurnal Ilmu Pertanian*, vol. 16, no. 2, hlm. 42-59.
13. Kammerer, B, Kahlich, R, Biegert, C, Gleiter, CH & Heide, L 2005, 'HPLC-MS/MS analysis of willow bark extracts contained in pharmaceutical preparations', *Phytochem. Anal.*, vol. 16, hlm. 470-8.
14. Khaerati, K & Ihwan 2011, 'Uji efek antibakteri ekstrak etanol herba seledri (*Apium graveolens* Linn.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan analisis KLT bioautografi', *Biocelebes.*, vol. 5, no. 1, hlm. 13-21.
15. Mardiana, FR, Kumala, S & Desmiyati, Y 2014, 'Penetapan karakteristik dan uji aktivitas penghambat ace ekstrak etanol 70% daun bunga pagoda (*Clerodendron japonicum* [Thunb.] sweet) secara *in vitro*', Abstrak perpustakaan online. Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila Jakarta, diakses 7 Mei 2015, <http://perpusffup.or.id/index.php?p=show_detail&id=8079>.
16. Mahdi, JG 2010, 'Medicinal potential of willow: A chemical perspective of aspirin discovery', *Journal of Saudi Chemical Society.*, vol. 14, no. 3, pp. 317-22.
17. Mialoundama, AS, Heinz, D, Debayle, D, Rahier, A, Camara B & Bouvier, F 2009, 'Abscisic acid negatively regulates elicitor-induced synthesis of capsidiol in wild tobacco', *Plant Physiol.*, vol. 150, pp. 1556-66.
18. Musa, WJA 2010, 'Karakterisasi dan mekanisme kerja senyawa aktif alami dari daun pagoda (*Clerodendron japonicum*) yang menginduksi ketahanan sistemik tanaman cabai merah terhadap *cucumber mosaic virus* (CMV)', *Inovasi*, vol. 7, no. 2, hlm. 33-42.
19. Petrek, JA, Hevel, L, Petrlova, J, Adam, V, Potesil, D, Babula, P & Kizek, R 2007, 'Analysis of salicylic acid I willow braks and branches by an electrochemical methods', *Russian Journal of Plant Physiology*, vol. 54, no. 4, pp. 623-8.
20. Rahmawati, Y, Windari, U & Saputra, R 2014, 'Ketahanan terinduksi sytemic acquired resistance (SAR) dan induced systemic resistance (ISR)', diunduh 27 Mei 2015, <<http://rachputra.blogspot.com/2014/05/mekanisme-ketahanan-terinduksi.html>>.
21. Sanjaya, L 1994, 'Pengaruh penambahan penyinaran dengan lampu TL dan pijar terhadap pertumbuhan dan pembungaan krisan pot', *Bul. Pen. Tan. Hias*, vol. 2, no. 2, hlm. 61-70.
22. Silvia, E, Nuryani, W, Hanudin, Djatnika, I, Suhardi & Winarto, B 2012, 'Potensi beberapa fungisida nabati dalam mengendalikan penyakit karat putih (*Puccinia horiana* Henn) dan perbaikan mutu krisan', *J. Hort.*, vol. 22, no. 4, hlm. 385-91.
23. Sobhy, A, H, Abo-Elyousr, KAM & Abdel-Rahim, IR 2013, 'Effect of certain plant extracts to control purple blotch disease of onion plants (*Allium cepa* L.)', *J. Plant Physiol Pathol.*, vol. 1, no. 4, pp. 1-4, viewed 27 Mei 2015, <<http://dx.doi.org/10.4172/2329-955X.1000111>>.
24. Sofy, AR, Attia, MS, Sharaf, MA & Doudoug, KA 2014, 'Potential impacts of seed bacterization or salix extract in faba bean for enhancing protection against bean yellow mosaic disease', *Nature and Science.*, vol. 12, no. 10, pp. 67-82, diunduh 7 May 2015, <http://www.sciencepub.net/nature/ns1210/008_27032ns121014_67_82.pdf>.
25. Somowiyarjo, S, Sumardiyono, YB & Martoso, S 2001, 'Inaktif CMV dengan ekstrak *Mirabilis jalapa*', *Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar PFI*, Bogor, hlm. 218-20.
26. Suhardi, E, Silvia & Saefuloh 2011, 'Pengendalian penyakit karat putih (*Puccinia horiana* P. Henn) pada krisan dengan mikoparasit: Koleksi dan karakterisasi', Laporan hasil penelitian Balai Penelitian Tanaman Hias TA 2011, 22 halaman. (Tidak dipublikasi).
27. Suhardi 2009, 'Sumber inokulum, respons varietas, dan efektivitas fungisida terhadap penyakit karat putih pada tanaman krisan', *J. Hort.*, vol. 19, no. 2, hlm. 207-9.
28. Sujatmiko, B, Silistyaningsih, E & Murti, RH 2012, 'Studi ketahanan melon (*Cucumis melo* L.) terhadap layu fusarium secara *in vitro* dan kaitannya dengan asam salisilat', *Ilmu Pertanian*, vol. 15, no. 2, hlm. 1-8.
29. Suresh, N, Santa, RA & Shivanna, MB, 2012, 'Coffee leaf rust (CLR) and diseases triangle : A case study', *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences*, vol. 2 no. 2, pp. 50-5.
30. Taufiq, M, Rahman, A, Wahab & Hidayat, SH 2010, 'Mekanisme ketahanan terinduksi oleh *Plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) pada tanaman cabai terinfeksi *cucumber mosaic virus* (CMV)', *J. Hort.*, vol. 20, no. 3, hlm. 274-83.
31. Timmusk, S 2003, 'Mechanism of action of the plant growth promoting bacterium *Paenibacillus polymyxa*. Acta Universitatis Upsaliensis (UPPSALA)' *Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from The Faculty of Science and Technology* 908, Uppsala, 40 pp.
32. Van Loon, LC & Bakker, PAHM 2003, *Signaling in Rhizobacteria-plant interactions*, viewed 17 Maret 2013, <<http://www.bio.uu.nl/fytopath/pdf/BookCh.vanLoon.2003.pdf>>.
33. Vallad, GE & Goodman, RM 2004, 'Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional Agriculture', *Crop Science Society of America.*, vol. 44, no. 6, pp. 1920-34, viewed 30 April 2015, <<https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/44/6/1920>>.

34. Walters, DR, Ratsep, J & Havis, ND 2013, 'Controlling crop diseases using induced resistance: Challenges for the future', *Journal of Experimental Botany Advance Access*, published February 5, 2013., pp. 1-18, viewed 27 Mei 2015, <<http://jxb.oxfordjournals.org/content/early/2013/02/04/jxb.ert026.full.pdf+html>>.
35. Zeng, J, Sun, J, Yang, X, Chen, F, Jiang, J, Fang, W & Chen S 2013, 'Variation for resistance to white rust (*Puccinia horiana*) among *Ajania* and *Chrysanthemum* Species', *HortSciences*, vol. 48, no. 10, pp. 1231-4.
36. Zheng, YN, Zhang, J, Han, LK, Sekiya, K, Kimura, Y & Okuda, H 2005, 'Effect of compounds in leaves of *Salix matsudana* on arachidonic acid metabolism', *Yakugaku Zasshi.*, vol. 125, no. 12, pp. 1005-8.